



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K PATENTU

199644
(11) (B2)

(22) Přihlášeno 01 10 76
(21) (PV 2253-78)

(32) (31) (33), Právo přednosti od 01 10 75
(7510988-4) Švédsko

(40) Zveřejněno 31 10 79

(45) Vydáno 15 07 83

(51) Int. Cl.³
C 07 C 91/32
A 61 K 31/05
A 61 K 31/13

(72)

Autor vynálezu

SVENSSON LEIF ÅKE, SÖRENBY LARS MAGNUS, LUND
a WETTERLIN KJELL INGVAR LEOPOLD, SANDBY (Švédsko)

(73)

Majitel patentu

AKTIEBOLAGET DRACO, LUND (Švédsko)

(54) Způsob výroby nových derivátů fenylaminoethanolu

1

Vynález se týká výroby nových farmakologicky účinných sloučenin. Nové sloučeniny vyrobené způsobem podle vynálezu mají zejména antialergickou a antianafylaktickou účinnost a jsou zvláště cenné jako antiastmatické látky a lze jich rovněž používat při léčbě a profylaktickému ošetření jiných alergických chorob.

Pod pojmem „alergie“ se míní podle Darlandova díla „Illustrated Medical Dictionary“, 24. vydání, 1967, hypersenzitivní stav získaný vystavením (expozicí) konkrétnímu alergenu, přičemž opětovné vystavení vede ke změně reakční schopnosti. Jako příklady různých alergií lze uvést alergickou rýmu, sennou horečku a kopřivku. Společným znakem mnoha druhů alergických reakcí u lidí je reakce antigen — protilátka, která vede k uvolňování farmakologicky účinných látek (= mediátorů), mezi jiným histaminu a SRS-A (= pomalu reagující anafylaktická látka). Takto uvolňované mediátory vyvolávají bronchokonstrikce, oedemy, zvýšenou tvorbu hlenů, svědění atd. Sled reakcí alergické ataky lze objasnit schematicky následujícím způsobem:

2

Stupeň 1

Do organismu vstupuje alergen
(antigen)

Stupeň 2

Antigen vstupuje do reakce
s protilátkami, což vede k

Stupeň 3

uvolňování mediátorů

Stupeň 4

uvolněné látky, zejména histamin a SRS-A,
vyvolávají příznaky alergické reakce:
bronchokonstrikci, oedem,
zvýšenou tvorbu hlenů atd.

Tento druh této zvýšené reakce organismu, objasněné výše, na alergeny (antigeny), kterými mohou být cizí protein nebo jiné látky, se nazývá anafylaktická reakce.

Mechanismy účastnící se anafylaktické reakce jsou diskutovány mezi jinými Assemem v *Clinical Allergy*, 1974, sv. 4, str. 185 až 194, a Assemem a Schildem v *Int. Arch. Allergy*, 40, 576 až 589 (1971).

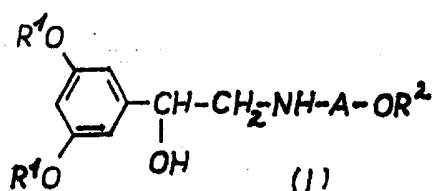
Ačkoliv v následujícím popise se klade důraz na bronchiální astma exogenního typu, které je pouze jednou z forem alergií, je jasné, že výsledků dosažených způsobem podle vynálezu lze rovněž použít i u jiných forem alergie.

Při obvyklé léčbě astmatu se léčí příznaky objevující se ve 4. stupni. Konkrétně bronchiální konstrikce se mírní podáváním látek, které mírní bronchiální spasmy a rozšiřují takto bronchy. S touto léčbou se však obvykle začíná pouze tehdy, když je astmatický záchvat na cestě nebo je již zcela rozvinutý. Bylo by žádoucí zpřístupnit profylaktický způsob, jehož by mohlo být použito k prevenci skutečného vypuknutí alergických záchvatů. To by mohlo být dosaženo inhibicí uvolňování mediátorů objevujících se ve 3. stupni výše uvedeného schématu. Je známo, že některé sympatomimetické aminy, mezi kterými lze uvést takové, kterých se používá v léčbě astmatu — adrenalin, isoprenalin, terbutalin — inhibují rovněž uvolňování mediátorů indukovaných antigenem.

Tyto látky mají antianafylaktickou účinnost ve stejném rozmezí dávek, jaké se požaduje k dosažení bronchodilatace. To mezi jiným znamená, že nežádoucí vedlejší účinky, objevující se někdy po těchto sympatomimetických aminech, jako bušení srdce a třes, by mohly omezit jejich používání jako antianafylaktických látek.

Úkolem tohoto vynálezu je poskytnout sloučeniny, které inhibují antigenem indukované uvolňování histaminu a jiných spasmogenních látek v rozmezí dávky, kdy nevyvolávají „klasické“ sympatomimetické účinky, například vasodilataci, stimulaci srdce a třes. Sloučeniny se specifickým inhibičním účinkem na uvolňování spasmogenních látek jsou účinné jako profylaktické a anti-anafylaktické látky v léčbě různých druhů alergií včetně bronchiálního astmatu, aniž by docházelo k vedlejším účinkům, které lze pozorovat u sympatomimetických aminů používaných obvykle jako bronchospasmolytické látky.

Podle vynálezu bylo shledáno, že sloučeniny obecného vzorce I



ve kterém

R¹ a R² jsou stejné nebo různé a značí vodík, alifatickou acylovou skupinu s 1 až 5 uhlíkovými atomy, benzoylovou nebo fenylacetylovou skupinu a

A značí alkylenovou skupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem s 3 až 6 atomy uhlíku nebo cykloalkylenovou skupinu obsahující 4 až 6 uhlíkových atomů, a jejich fyziologicky neškodné soli mají výraznou antianafylaktickou účinnost v rozmezí dávek, při nichž jsou jejich srdečně stimulační a bronchospasmolytické účinky zanedbatelné. Tato nečekaná a příznivá kombinace vlastností činí sloučeniny podle vynálezu cennými antianafylaktickými látkami, kterých lze používat při profylaxi různých forem alergie, například alergické rýmy, senné horečky, kopřivky, astmatu atd. se sníženým nebezpečím výskytu vedlejších účinků pozorovaných obvykle u sympatomimetických aminů.

Jako ilustrativní příklady skupin R¹ a R²

lze uvést

H—

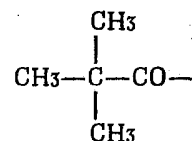
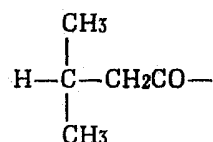
CH₃CO—

CH₃CH₂CO—

CH₃CH₂CH₂CO—

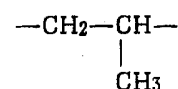
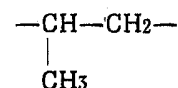
(CH₃)₂CHCO—

CH₃(CH₂)₃CO—

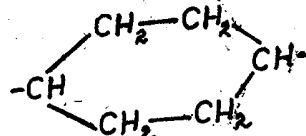
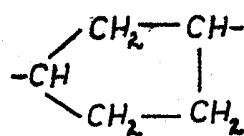
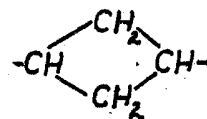
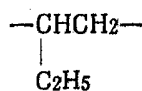
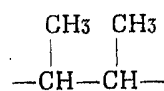
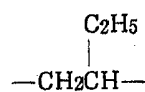
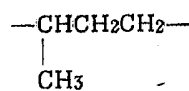
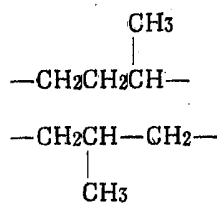
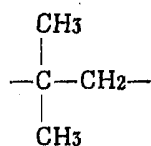


Jako ilustrativní příklady skupin A lze uvést

—CH₂CH₂CH₂—



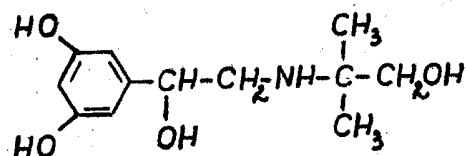
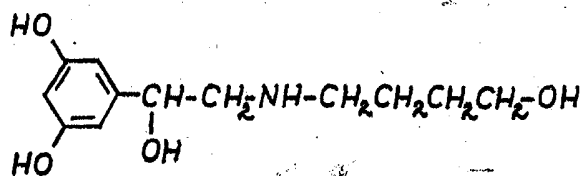
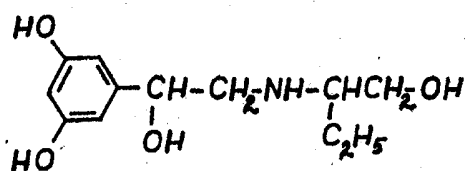
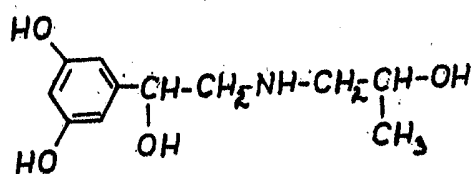
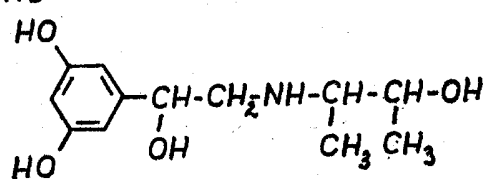
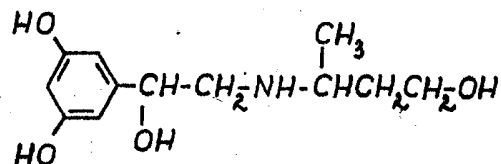
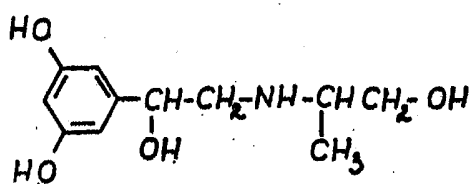
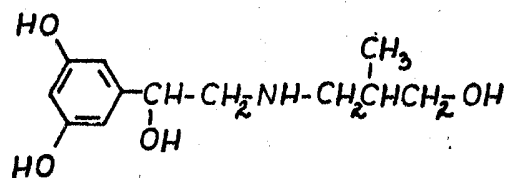
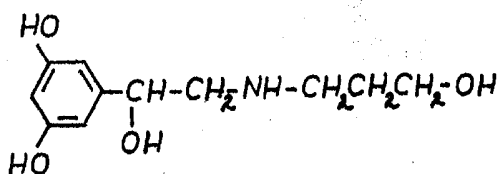
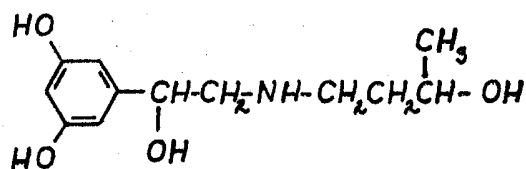
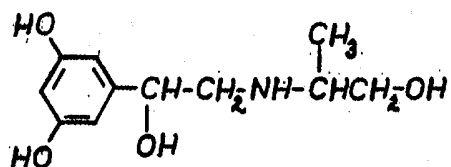
—CH₂CH₂CH₂CH₂—

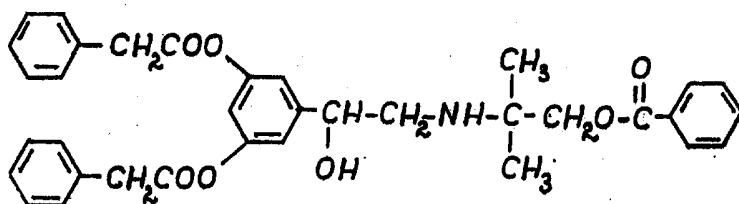
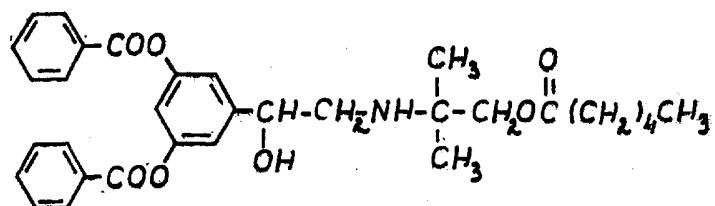
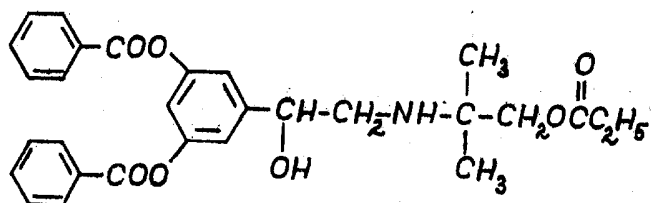
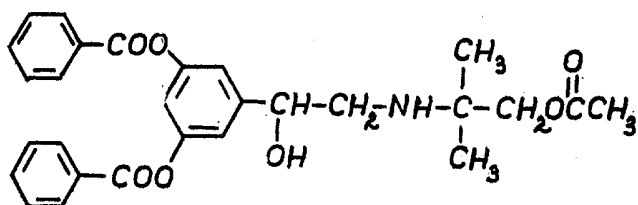
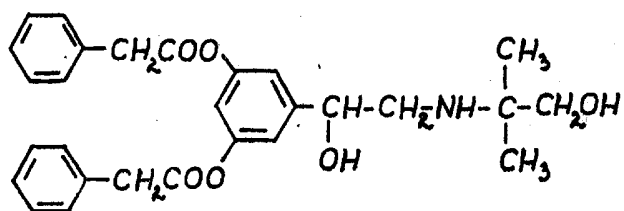
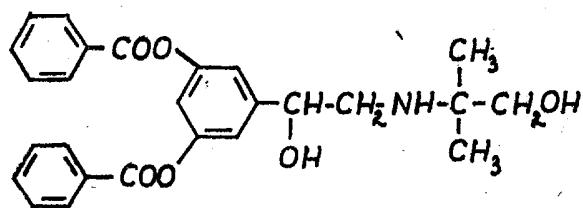


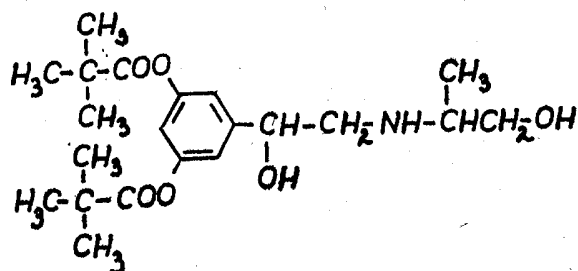
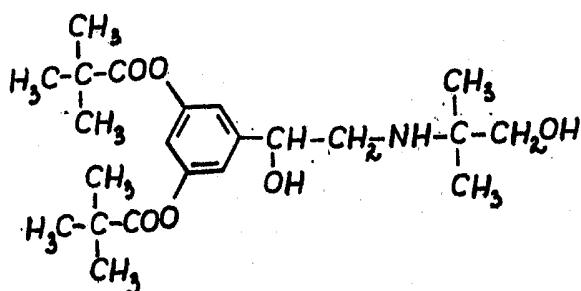
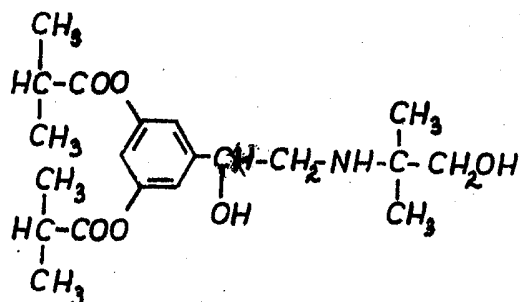
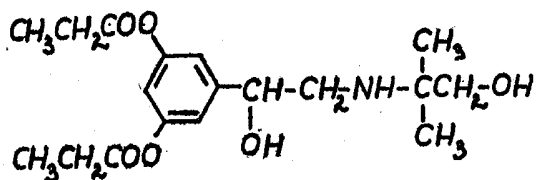
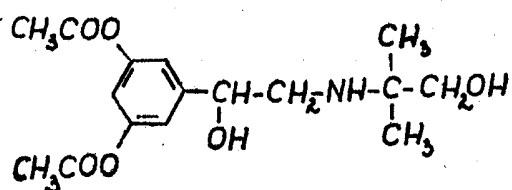
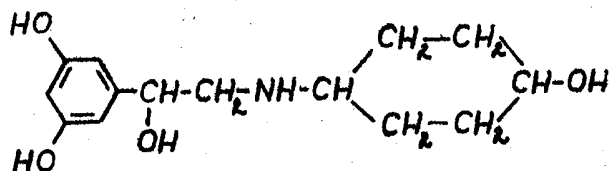
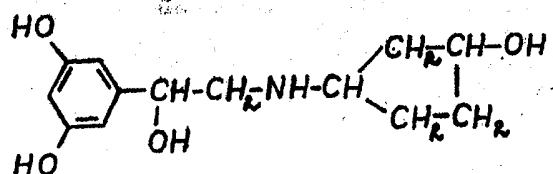
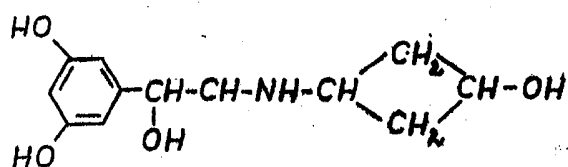
Skupina R¹ znamená s výhodou atom vodíku.

Skupina A znamená s výhodou alkylenové skupiny s přímým nebo rozvětveným řetězcem obsahující 3 až 4 uhlíkové atomy.

Ilustrativními příklady sloučenin podle vynálezu jsou

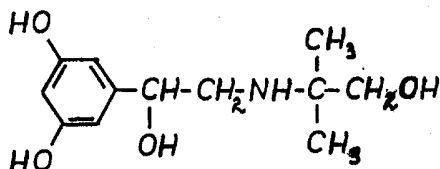




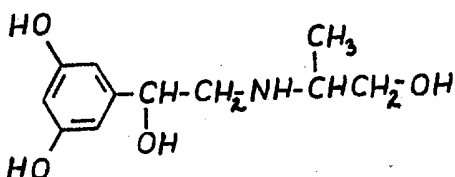


Výhodnou skupinou sloučenin jsou takové sloučeniny, ve kterých R^1 znamená atom vodíku a A znamená alkylovou skupinu s přímým nebo rozvětveným řetězcem o 3 až 4 atomech uhlíku.

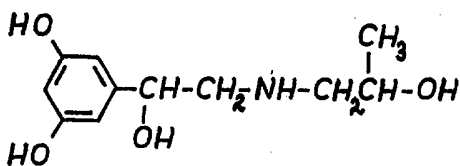
Výhodnými sloučeninami podle vynálezu jsou



(příklad 1)

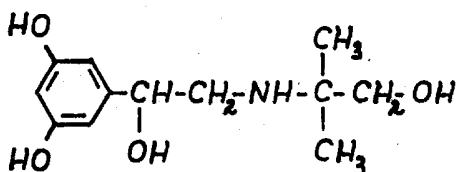


(příklad 2)



(příklad 4)

Zvláště výhodnou sloučeninou podle vynálezu je



(příklad 1)

Protože sloučeniny podle vynálezu obecného vzorce I mají alespoň jeden asymetrický uhlovodíkový atom, zahrnuje vynález rovněž všechny možné opticky aktivní formy a racemické směsi sloučenin. Racemické směsi lze štěpit obvyklými způsoby, například tvorbou solí s opticky aktivní sloučeninou s následnou frakční krystalizací.

Sloučeniny podle vynálezu lze upravovat do formy přípravků k použití v humánní a veterinární medicíně pro terapeutické a profylaktické účely. Obecně lze jich používat ve formě fyziologicky neškodných solí, například hydrochloridu, sulfátu, maleinátu, vinanu atd.

V klinické praxi se sloučeniny podle vynálezu aplikují obvykle orálně, injekčně nebo inhalačně ve formě farmaceutických přípravků obsahujících účinnou složku ve formě původní sloučeniny nebo případně ve formě její fyziologicky neškodné soli, spolu s fyziologicky neškodným nosičem, kterým může být pevné, polopevné nebo tekuté zředovací, nebo stravitelná tobolka, takové přípravky jsou dalším účelem vynálezu. Účinná sloučenina činí obvykle 0,1 až 99 % hmotnostních přípravku, například 0,5 až 20 % hmotnostních u přípravků uvažovaných pro injekční účel a mezi 0,1 a 50 proc. hmotnostních u přípravků uvažovaných pro orální aplikaci.

Pro výrobu farmaceutických přípravků ve formě dávek (dávkových jednotek) pro orální aplikaci, obsahujících sloučeninu podle vynálezu lze aktivní složku smíchat s pevným práškovitým nosičem, například laktózou, sacharózou, sorbitem, mannitem, škrobem, například bramborovým škrobem, kukuřičným škrobem, amylopektinem, práškem z laminárií (čepelnatky) nebo práškem z dřeně citrónu, derivátem celulózy nebo želatiny a mohou být obsaženy rovněž kluzné látky jako stearan hořečnatý nebo vápenatý, nebo polyethylenglykol (Carbowax) nebo jiné polyethylenglykolové vosky a lze je lisovat za vzniku tablet nebo jader pro dražé. Jestliže se požadují dražé, jádra lze povlékat, například koncentrovanými roztoky cukru, které mohou obsahovat arabskou klovatinu, mastek a/nebo kysličník titaničitý nebo látku vytvářející film, rozpuštěnou v lehce těkavých organických rozpouštědlech nebo ve směsích organických rozpouštědel.

K těmto povlakům lze přidávat barviva, například pro rozlišování různých obsahů účinné látky. Pro přípravu měkkých želatinových tobolek (perličkovitých uzavřených tobolek), sestávajících ze želatiny a například z glycerolu jako změkčovadla, nebo podobných uzavřených tobolek, lze účinnou sloučeninu smíchat s polyethylenglykolem (Carbowaxem) nebo s vhodným olejem, například se sezamovým olejem, olivovým olejem nebo podzemnicovým olejem. Tvrdé želatinové tobolky mohou obsahovat granulé účinné látky s pevnými práškovitými nosiči, jako laktózou, sacharózou, mannitem, škroby (například bramborovým nebo kukuřičným škrobem nebo amylopektinem), deriváty celulózy nebo želatiny, a jako kluzné látky mohou obsahovat rovněž stearan hořečnatý nebo kyselinu stearovou.

Použitím několika vrstev účinného léčiva, oddělených pomalu se rozpouštějícími povlaky, se získávají tablety s pomalým uvolňováním. Jiným způsobem výroby tablet s pomalým uvolňováním je rozdělení dávky aktivní sloučeniny do granulí do tablet spolu s nosičem. Účinná sloučenina může být inkorporována rovněž do pomalu se rozpouš-

tějšících tablet vyráběných například z tukovitých a voskovitých sloučenin nebo rovnoměrně rozdělena v tabletě z nerozpustné látky, například z fyziologicky inertní plastické hmoty.

Sumivé prášky se připravují smícháním účinné složky s nejedovatými uhlčitany nebo hydrogenuhlčitany, například sodným, draselným nebo vápenatým, například uhlčitanem vápenatým, uhlčitanem draselným a hydrogenuhlčitanem draselným, pevnými nejedovatými kyselinami, například kyselinou vinnou, askorbovou a citrónovou a například aromatickou látkou.

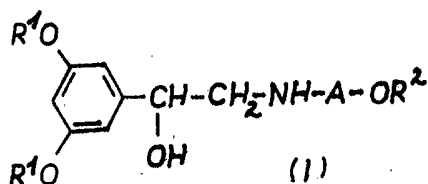
Tekuté přípravky pro orální aplikaci mohou být ve formě elixírů, sirupů nebo suspenzí, například roztoků obsahujících od 0,1 do 20 % hmotnostních účinné látky, cukr a směs ethanolu, vody, glycerolu, propylenglykolu a případně aromátu, sacharin a/nebo karboxymethylcelulózu jako disperzní činidlo.

Injekční přípravky pro parenterální aplikace mohou obsahovat vodný roztok ve vodě rozpustné fyziologicky neškodné soli účinné látky podle vynálezu, v žádoucí koncentraci 0,5 až 10 % hmotnostních, a případně rovněž stabilizační činidlo a/nebo pufrý ve vodném roztoku. Dávkové jednotky roztoku mohou být s výhodou uzavřeny do ampulek.

Dávka, ve které se účinná sloučenina podává se může pohybovat v širokém rozsahu, a závisí na různých činitelích, například na individuálních požadavcích každého pacienta. Vhodný rozsah orálního dávkování je od 10 do 200 mg denně. Vhodný rozsah parenterálního dávkování je od asi 1 do asi 50 mg denně.

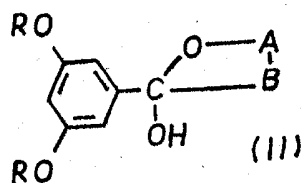
Farmaceutické přípravky obsahující účinné složky lze upravovat vhodně do formy přípravků, takže poskytují dávky v těchto rozmezích buď jako jednotlivé dávkové jednotky, nebo jako několikanásobné dávkové jednotky.

Vynálezem je tedy způsob výroby nových derivátů fenylaminoethanolu obecného vzorce I



ve kterém

R^1 , R^2 a A mají shora uvedený význam jakož i jejich fyziologicky neškodných solí, přičemž podstata vynálezu spočívá v tom, že se redukuje sloučenina obecného vzorce II

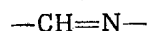


ve kterém

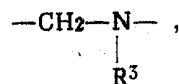
R je vodík nebo skupina chránící hydroxyl, jako například alkylová nebo alifatická acylová skupina o nejvýše 5 uhlíkových atomech, mono- nebo bicyklická aralkylová skupina o nejvýše 11 uhlíkových atomech jako například benzyl nebo naftylmethyl, nebo benzoylová skupina nebo fenylacetylová skupina,

A má význam udaný výše a

B znamená skupinu vzorců



nebo

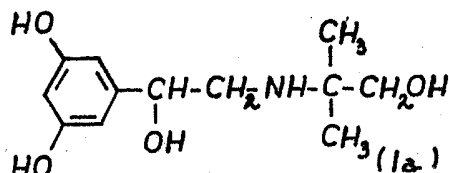


kde

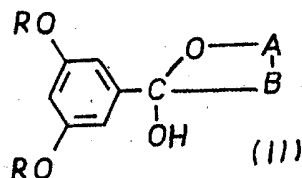
R^3 znamená vodík nebo N-chránící skupinu jako benzyl,

načež, je-li třeba, se chránící skupiny R a R^3 odstraní; potom, je-li třeba, se takto získaná sloučenina vzorce I převede na svou fyziologicky neškodnou sůl a/nebo se rozdělí ve své optické isomery.

Zvláště výhodná sloučenina podle vynálezu, Ia



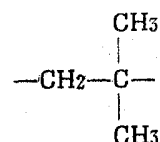
se vyrábí tak, že sloučenina obecného vzorce II



kde

R má výše udaný význam,

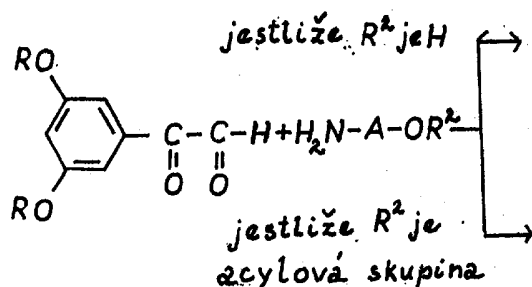
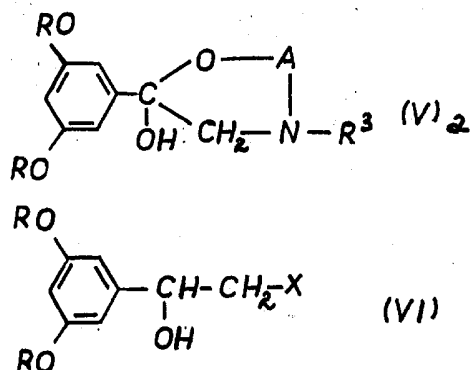
A značí skupinu



a

B má stejný význam jako udáno výše, se redukuje, načež, je-li třeba, se ze získané sloučeniny odstraní chránicí skupiny R a R³.

Výchozí látky výše uvedené jsou nové sloučeniny. Tyto sloučeniny obecných vzorců V a VI

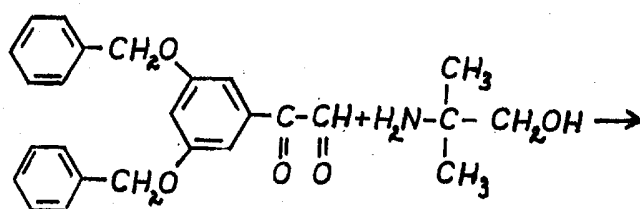


Následující příklady objasňují vynález.

Příklad 1

Výroba 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanol-sulfátu

a) Výroba 1-(3,5-dibenzyloxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanol-sulfátu

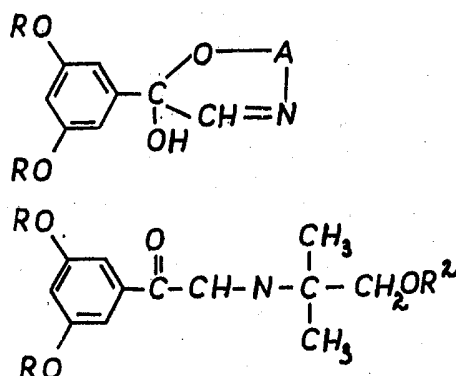
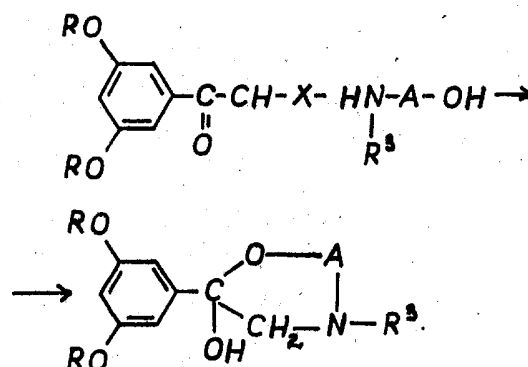


b) Výroba 1-(3,5-dibenzyloxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu

K suspenzi 6 g 3,3-dimethyl-6-hydroxy-6-(3,5-dibenzyloxyfenyl)-4,5-dihydro-

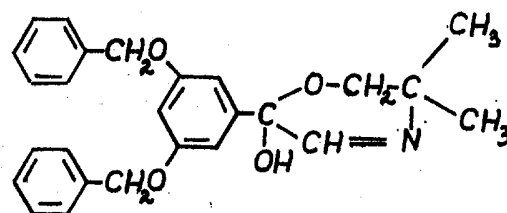
představují další účel tohoto vynálezu.

Výchozí látky lze připravit například, jak je objasněno v níže uvedených reakcích, kde substituenty R, R³, X a A mají význam výše uvedený:



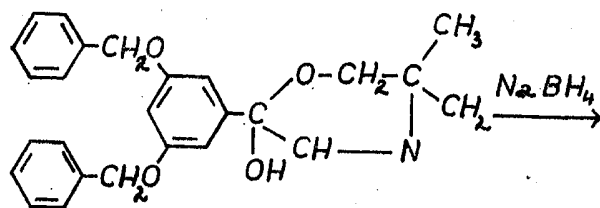
K roztoku 7,8 g monoethylacetalu 3,5-dibenzyloxyfenylglyoxalu ve 150 ml diethyletheru se přidá roztok 1,8 g 2-amino-2-methylpropanolu-(1) v 50 ml suchého etheru. V nadpise uvedená sloučenina začíná brzo krystalovat a reakční směs se ponechá stát po dobu 20 hodin při teplotě místnosti, potom se krystaly odfiltrují. Výtěžek 6 g, Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Reakční schéma



morfolinu v ethanolu se přidá po malých částech 0,6 g borohydridu sodného. Získaný čirý roztok se míchá při teplotě místnosti po dobu 4 hodin, potom se rozpouštědlo odpaří. Odparek se vyjme do etheru a promývá vodou, až do neutrální hodnoty pH.

Etherová fáze se suší síranem hořečnatým a po zkoncentrování ve vakuu se získají 4 g v nadpise uvedené sloučeniny ve formě bílé pevné hmoty. Tato sloučenina se identifikuje za použití NMR a IČ a je ve všech



c) Výroba v nadpise uvedené sloučeniny
Katalytická hydrogenace 3,3-dimethyl-6-hydroxy-6-(3,5-dibenzyloxyfenyl)-4,5-dihydromorfolinu získaného ve stupni b) při teplotě místnosti a přetlaku 379,5 kPa v přítomnosti 5% paládia na uhlí v ethanolu obsahujícím kyselinu sírovou poskytne 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolsulfátu identifikovaného analýzou pomocí chromatografie na tenké vrstvě.

Stejného způsobu může být použito pro přípravu následujících sloučenin.

Příklad 2

1-(3,5-Dihydroxyfenyl)-2-[(1-methyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolsulfát

SO₄²⁻: 97,4 %, teplota tání 154 °C. Struktura sloučeniny byla potvrzena NMR.

Příklad 3

1-(3,5-Dihydroxyfenyl)-2-[(4-hydroxycyklohexyl)amino]ethanolhydrochlorid

vypočteno: 11,7 % Br⁻
nalezeno: 11,5 % Br⁻

Teplota tání 234 °C.

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 4

Hydrochlorid 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2-hydroxypropyl)amino]ethanolu

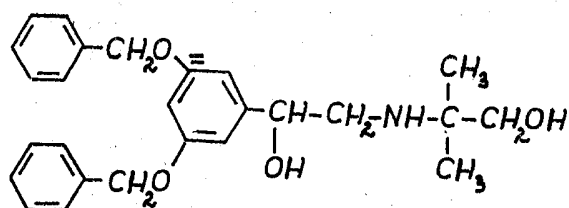
Olej:

vypočteno: 13,4 % Cl⁻
nalezeno: 12,4 % Cl⁻

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

ohledech totožná s látkou získanou podle příkladu 1a.

Reakční schéma



Příklad 5

1-(3,5-Dihydroxyfenyl)-2-[(1-ethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolhydrochlorid

Olej:

vypočteno: 12,8 % Cl⁻
nalezeno: 11,6 % Cl⁻

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 6

Sulfát 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(3-hydroxypropyl)amino]ethanolu

92 % SO₄²⁻.

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 7

Hydrochlorid 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2,2-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu

vypočteno: 12,8 Cl⁻
nalezeno: 12,5 % Cl⁻

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 8

Hydrobromid 1-[3,5-bis-[2-methylpropionyloxy]fenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu

vypočteno: 17,3 % Br⁻
nalezeno: 17,4 % Br⁻

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 9

Hydrochlorid 1-[3,5-bis(2,2-dimethylpropionyloxy)fenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu

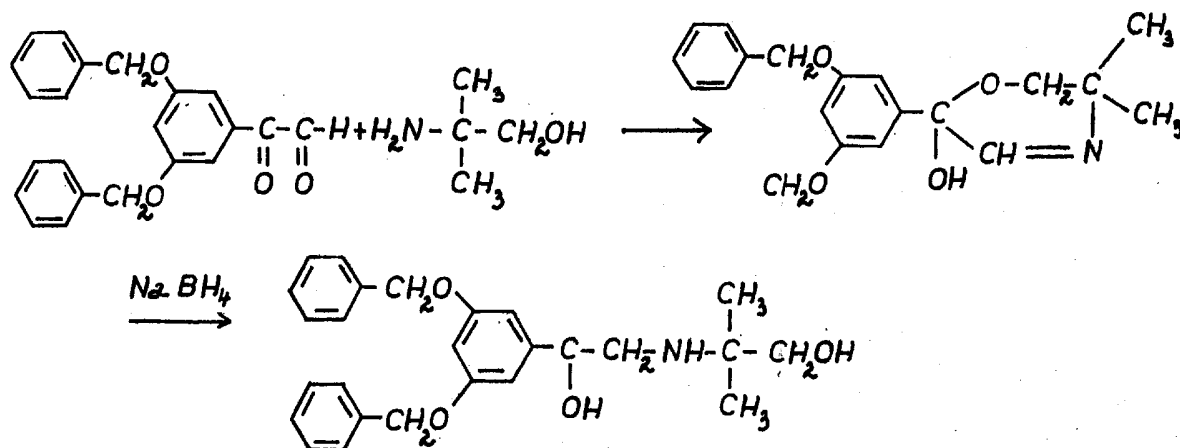
vypočteno: 16,3 % Br⁻

nalezeno: 16,4 % Br⁻

Struktura sloučeniny byla potvrzena pomocí NMR.

Příklad 10

Výroba sulfátu 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu



b) Výroba 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu

Reakční produkt získaný ve stupni a) se katalyticky redukuje v přítomnosti 5% paládia na uhlí v ethanolu, jak je popsáno v příkladu 1c za vzniku v nadpise uvedené sloučeniny 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu.

Následující příklady objasňují, jak lze sloučeniny podle vynálezu inkorporovat do farmaceutických přípravků:

Příklad 11

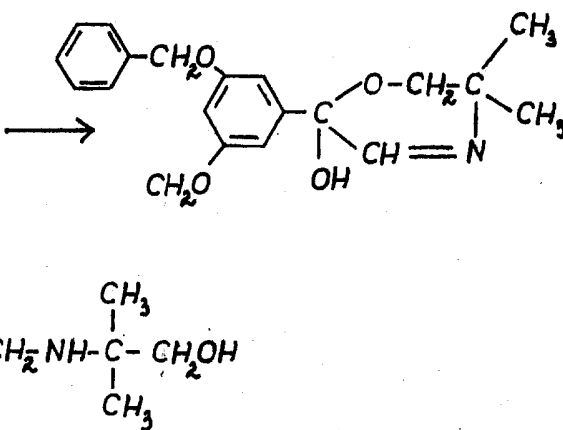
Aerosol pro inhalaci:

Sulfát 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu	1,00 g
rozpouštědlo (Miglyol)	0,20 g
propelant (Frigen 11/12/113/114)	do 100,00 g

a) Výroba 1-[3,5-dibenzyloxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethylamino)ethanolu

Monoethylacetal 3,5-dibenzyloxyfenylglyoxalu a 2-amino-2-methylpropan-1-ol se uvádějí do reakce v ethanolu a meziproduct 3,5-dibenzyloxy- ω -(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)iminoacetofenon se redukuje in situ borohydridem sodným bez izolace 1-[3,5-dibenzyloxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethylamino)ethanolu.

Reakční schéma:



Příklad 12

Tablety

Každá tableta obsahuje:

sulfát 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu	20,00 mg
kukuřičný škrob	25,00 mg
laktóza	190,00 mg
želatina	1,50 mg
mastek	12,00 mg
stearan hořečnatý	1,50 mg
	250,00 mg

Příklad 13

Čípky

Každý čípek obsahuje:

sulfát 1-[3,5-dihydroxyfenyl]-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu	20,0 mg
askorbylpalmitát	1,0 mg
čípkový základ (Imhausen H)	do 2000,0 mg

Příklad 14

Sirup

hydrochlorid 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2-hydroxypropyl)-amino]ethanolu	0,200 g
tekutá glukóza	30,0 g
sacharóza	50,0 g
kyselina askorbová	0,1 g
pyrosiřičitan sodný	0,01 g
dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,01 g
pomerančová esence	0,025 g
neškodné barvivo	0,015 g
čištěná voda	do 1000,0 g

Příklad 15

Injekční roztok

Hydrochlorid 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2-hydroxypropyl)-amino]ethanolu	0,500 mg
pyrosiřičitan sodný	0,500 mg
dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,100 mg
chlorid sodný	0,500 mg
sterilní voda pro injekce	do 1,00 mg

Příklad 16

Inhalační roztok

Sulfát 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu	5,00 g
pyrosiřičitan sodný	0,10 g
dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,10 g
chlorid sodný	0,85 g
čištěná voda	do 100,0 ml

Příklad 17

Roztok pro rektální aplikaci (rektální lékovky)

sulfát 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(1-methyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu	20,0 mg
pyrosiřičitan sodný	1,5 mg
dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,3 mg
sterilní voda	do 3,0 ml

Příklad 18

Sublinguální tablety

Hydrochlorid 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2-hydroxypropyl)-amino]ethanolu	85,0 mg
laktóza	5,0 mg
agar	5,0 mg
mastek	-----
	100,0 mg

Příklad 19

Kapky

1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(2-hydroxypropylamino)ethanol]-hydrochlorid	2,00 g
kyselina askorbová	1,00 g
pyrosiřičitan sodný	0,10 g
dvojsodná sůl kyseliny edetové	0,10 g
tekutá glukóza	50,00 g
absolutní ethanol	10,00 g
čištěná voda	do 100,00 ml

Farmakologické testy

A. Antianafylaktický účinek

Antianafylaktický účinek byl zkoušen na aktivitě a pasivně zcitlivěných laboratorních zvířatech.

Aktivního zcitlivění zvířat se dosahuje injekční aplikací proteinu ovalbuminu. Tato aplikace činí zvířata přecitlivělými k následující provokaci ovalbuminem. Antianafylaktický účinek zkoušených látek byl zkoušen in vitro vystavením plic z aktivně zcitlivěných zvířat působení ovalbuminu a hodnocením působení zkoušené sloučeniny na množství histaminu uvolněné takto z preparátu z plic.

1. Inhibice uvolňování histaminu z aktivně zcitlivěných plic morčete

Metody:

Morčatům obojího pohlaví o hmotnosti 300 až 400 g, se aplikují jednotlivé 50 mg intraperitoneální injekce ovalbuminu emulgovaného v kompletním Freundově adjuvantu. Zvířata se použijí 2 až 5 týdnů později v provokačním pokuse popsaném níže.

Zcitlivěná zvířata se umrtví a nechají vykrváčet. Plice se vyjmou a dokonale rozmělňují. V každé sérii pokusů se používají plice ze 2 až 4 zvířat. Po několika promytích Krebsovým roztokem se tkáň rozdělí do zkumavek s Krebsovým roztokem (0,1 g tkáně na 1 ml) a vloží se do vodní lázně teplé 37 °C. Po 5 minutách předinkubace se přidá ovalbumin (= antigen). Zkoušená sloučenina se přidá 2 minuty před přidáním ovalbuminu. Inkubace obvykle pokračuje dalších 15 minut, přičemž se zkumavky občas ručně potřepou. Fáze uvolňování histaminu se zastaví vložením zkumavek do ledové lázně. Inkubační tekutiny se dekantují a nahradí roztokem chloridu sodného okyseleným kyselinou chlorovodíkovou na pH 3,5. Plicní tkáň s roztokem chloridu sodného se vaří po dobu 8 minut na vodní lázni. Inkubační tekutiny a tkáňové extrakty se udržují před zkoušením v ledové lázni.

Obsah histaminu v inkubačních tekutinách a vařených extraktech se stanovuje

testem na střevu morčete. Části terminálního ilea, 2 cm dlouhé, z morčat o hmotnosti 0,2 až 0,3 kg se umístí podélně ve 20 ml lázních (o teplotě 37 °C) obsahujících Krebsův roztok, kontinuálně provzdušňovaných malými bublinkami karbogenu. K lázni se přidají atropin v množství 10^{-7} mol a propranolol 10^{-6} mol. Stahy se zaznamenávají pomocí přenášeče silového posunu (Grass, FT03) a zapisovače (Grass, model 7).

Asi po 1 hodině po několikerém promytí se zkouší citlivost preparátů k opakovaným dávkám histaminu. Segmenty s nízkou citlivostí a značnou variabilitou a s nestabilní základnou se vyřadí. Rovněž se vyloučí preparáty s vysokou spontánní účinností. Preparáty se standardizují, aby odpovídaly 2, 4, 8 a 12 mg histaminové báze v ml. Tyto dávky se podávají opakovaně v náhodném sledu až se získávají stále odpovědi. Rozsah stavu střeva v tomto rozmezí odpovídá logaritmu dávky histaminu. Zkoušené roztoky se přidávají v množství 0,1 až 1,0 ml, které se zvolí tak, že vyvolává stejné množství stahů, jaké se získává s intervenční dávkou histaminu.

Udržováním této intervenční standardní histaminové dávky na konstantní úrovni se usnadňuje sledování změn v citlivosti střeva,

va, které bylo po dobu 15 sekund ve styku s histaminem nebo zkoušeným roztokem. Během této doby bylo zaznamenáno největší množství stahů. Po promytí se nechají uplynout dvě minuty před podáním následující dávky. Všechny roztoky se přidávají pipetou. Kontrakční mohutnost zkoušených roztoků na izolovaném ileu morčat se vyjadřuje jako histaminová báze. Spontánní uvolňování histaminu vyvolané účinkem na plíce se odvozuje z hodnot udaných v textu. Výsledky se vyjadřují jako histamin uvolněný vztahený na gram hmotnosti vlhké plicní tkáně nebo procenty inhibice uvolňování histaminu. Terbutalinu nebo isoprenalinu se používá jako srovnávací látky. Terbutalin (bricanyl) je sympatomimetický amin používaný v léčbě bronchiálního astmatu. V každé sérii pokusů se používají dva stejné provedené vzorky. Všechny vzorky ve stejné sérii se zkouší proti stejnému histaminovému standardu. Výsledky zkoušek pro výhodnou sloučeninu podle vynálezu jsou udány níže v tabulce 1. Souhrn výsledků zkoušek je shrnut v tabulce IV, ve které se udává účinek každé látky v poměru k účinnosti terbutalinu. Provádí se srovnání mezi dávkami vyvolávajícími 50% inhibici uvolňování histaminu.

Tabulka I

Inhibice (%) uvolňování histaminu ze zcitlivěných plic morčat. Kontrolní uvolňování bez inhibice činí 15 až 30 % tkáňového his-

taminu. Udávají se průměrné hodnoty $\pm$ standardní odchylka průměru, počet zkoušených preparátů je v závorkách.

Inhibitor	Inhibice (%) při různých koncentracích (molarita)			
	10^{-8}	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}
sloučenina z příkladu 1	20 $\pm$ 5 (4)	30 $\pm$ 5 (10)	42 $\pm$ 3 (10)	51 $\pm$ 3 (9)
Terbutalin	30 (1)	24 $\pm$ 5 (7)	43 $\pm$ 5 (8)	58 $\pm$ 3 (8)

Poznámky k výsledkům tabulky I

Ovalbuminem modifikované uvolňování histaminu z aktivně zcitlivěných plic morčat představuje 10 až 30 % tkáňového množství stanoveného varem tkáně. Spontánní uvolňování histaminu z plicní tkáně nepřevýšilo 2 %. Jestliže se zkoušená sloučenina z příkladu 1 přidá k plicní tkáni po dobu 2 minut před antigenem, uvolňování histaminu se inhibuje mechanismem závislým na dávce. Účinnost zkoušené sloučeniny je zhruba stejná jako účinnost terbutalinu. Maximální inhibice uvolňování histaminu zkoušenou sloučeninou z příkladu 1 je přibližně stejná jako účinnost isoprenalinu. Inhibiční účinek se zcela blokuje propranololem v dávce 10^{-6} mol. Inhibiční účinek terbutalinu na uvolňování histaminu se docílí stejnými koncentracemi, které uvolňují sta-

hy průdušnice morčat vyvolané pilokarpinem.

2. Inhibice uvolňování nehistaminové látky působící pomalé kontrakce SRS-A

Nehistaminová látka, působící pomalé kontrakce se zkouší na stejném preparátu ilea jak je uvedeno výše, avšak po přidání 0,04 μ g/ml brompheniraminu. Tato koncentrace zcela blokuje histaminovou odpověď. Za účelem získání stahové rovnováhy se užívá pro zkoušenou tekutinu doba 1 minuty. Kontraktilita této nehistaminové frakce se vyjadřuje jednotkami SRS-A, přičemž odpověď jedné jednotky SRS-A je ekvivalentní maximální tenzi 5 mg histaminu, získané na stejném neblokováném preparátu ilea morčete. Výsledky jsou udány níže v tabulce II.

Tabulka II

Inhibiční účinek na uvolňování pomalu stahujícího nehistaminového principu (SBS-A)

se zcitlivěných plic morčete

Pokus č.	Kontrola uvolňování jednotky/g plic	Inhibice (%) 10 ⁻⁸	získaná se 10 ⁻⁷	sloučeninou z příkladu 1 (molarita) 10 ⁻⁶	10 ⁻⁵
1	108	51	50	57	neudáno
2	33	55	57	61	79
3	27	57	52	66	83

Poznámky k výsledkům zkoušek z tabulky II

Z tabulky II je zřejmé, že v přítomnosti zkoušené látky (z příkladu 1) v koncentraci 10⁻⁸ až 10⁻⁵ mol se ve třech pokusech s různými vzorky plicní tkáně inhibuje 50 až 75 % nehistaminových spasmogenů.

3. Inhibice pasivní kožní anafylaktické reakce u krys

Metoda:

Samci krys o hmotnosti 150 až 300 g, (Sprague Dawley) se anestetizují pento-barbitalem (30 mg/kg intravenózně). Do veny femoralis se aplikuje intravenózně Evansova modř (10 mg/kg) a zkoušená látka. Potom se provede 6 intrakutánních vpichů

ve dvou řadách po každé straně střední čáry břicha dextranem o molekulové hmotnosti 70 000. Množství dextranu aplikovaného do každého vpichu činí 80 µg v 0,1 ml roztoku chloridu sodného. Dextran vyvolává anafylaktoidní reakci. Po 30 minutách se zvířata usmrtí a břišní kůže se vyřízne. Za použití hodnot 1 až 4 se určí vizuálně intenzita barvy. Pokusy s kontrolními zvířaty probíhají vždy bez působení léku se sloučeninou z příkladu 1 s terbutalinem. Ostatní sloučeniny se zkoušejí na dvou zvířatech, na každém na úrovni 3 až 4 dávek. Srovnání s terbutalinem se provádí na úrovni ED₅₀, což znamená účinnou dávku pro 50% inhibici barevné intenzity modře zbarvených poškození.

Výsledky jsou uvedeny níže v tabulce III:

Tabulka III

Inhibiční působení na dextranem indukované pupencové reakce u krys sloučeninou z příkladu 1 a terbutalinem.

Modráni se stanoví vizuálně za použití hodnot 1 až 4. PCA = pasivní kožní anafylaktoidní reakce.

Zkoušená sloučenina	Dávka mg/kg i. v.	Inhibice PCA (%)	Počet pokusů
sloučenina z příkladu 1	0,01	16±2	
sloučenina z příkladu 1	0,10	42±6	5
sloučenina z příkladu 1	1,00	78±2	5
Terbutalin	0,01	18±3	5
Terbutalin	0,10	56±6	5
Terbutalin	1,00	81±4	5

Poznámky k výsledkům zkoušek z tabulky III

Injekce dextranu vyvolávají pupencové reakce o průměru 15 až 20 mm. Sloučenina z příkladu 1 a terbutalin inhibují vývoj pupenců ve stejném rozsahu. Mezi účinností těchto dvou látek není význačného rozdílu. Inhibiční účinek se zcela blokuje propranololem (0,5 mg/kg) podaným intravenózně 5 minut před agonisty.

V tabulce IV jsou udány hodnoty účinnosti všech zkoušených látek ve vztahu k terbutalinu (hodnota ED₅₀ = 0,08 mg/kg).

B. Bronchospasmolytický účinek

Za účelem studia poměrné účinnosti anti-

anafylaktického účinku bronchospasmolytického účinku, se sleduje bronchospasmolytický účinek sloučenin podle vynálezu.

Relaxace izolované průdušnice morčat

Metoda:

Morčatům o hmotnosti 0,15 až 0,30 kg se vyjme trachea. Její spirální řezy se umístí v 25 ml orgánové lázni v Krebsově roztoku kontinuálně vzdušeném směsí 95 % kyslíku a 5% kyslíčnicku uhličitého. Přidá se pilokarpin v množství 1 µg/ml. Počáteční tenze je asi 2 g. Relaxace se zaznamenávají isotermicky. Zkoušené roztoky se přidávají k tekutinám v lázni buď

formou jednotlivých dávek nebo kumulativně. Odpovědi se vyjadřují procentem maximální možné odpovědi každého preparátu získané přidáním supermaximální koncentrace isoprenalinu. Pro každý preparát se počítají jednotlivé hodnoty EC_{50} (koncentrace vyvolávající 50 % maximální odpovědi).

S isoprenalinem se dosahuje maximální odpovědi. V tabulce IV jsou udána srovnání účinnosti s terbutalinem, prováděná na této úrovni. Udané hodnoty účinnosti představují průměrné hodnoty 2 až 4 pokusů.

Výsledky

Sloučenina z příkladu 1 relaxuje izolovanou průdušnici morčat stejně jako isoprenalin. V kumulativních pokusech je hodnota EC_{50} pro sloučeninu z příkladu 1 $0,2 \pm 0,54 \mu\text{g/ml}$ (mol. hmotnost $\pm$ standardní odchylka průměru, 8 pokusů). Účinnost sloučeniny je 0,03 násobkem účinnosti adrenalinu a 0,04 násobkem účinnosti terbutalinu.

Tracheální relaxační účinnosti všech zkoušených sloučenin jsou udány v tabulce IV.

C. Srdečně stimulační účinek

Sloučeniny podle vynálezu se zkoušejí rovněž ve vztahu k jejich účinku srdečně stimulačnímu. Význačný účinek srdečně stimulační patří k vážným nežádoucím vedlejším účinkům látek, které jsou uvažovány pro používání k léčbě alergie, včetně bronchiálního astmatu.

Stimulace kontraktibility srdeční komory morčete

Metoda

Aurikula levé srdeční předsně morčete se exciduje zvířatům obojího pohlaví o hmotnosti 0,5 až 0,9 kg a ihned se zavěsí na 100 ml tkáňové lázně s Krebsovým roz-

tokem při teplotě 31 °C, vzdušné směsi 95 proc. kyslíku a 5 % kyslíčnicku uhličitého. Preparát se stimuluje impulsy (z Grasso-va stimulatoru model 55, frekvence: 1 za s, doba trvání: 1 až 5 ms, napětí 1 až 5 V). Registruje se isomerická tenze. Zvýšení kontraktility síly se vyjadřuje procenty kontrolní tenze. Zkoušené sloučeniny se přidávají ve formě jednotlivých dávek s občasným promytím. Vypočítají se jednotlivé hodnoty EC_{50} (koncentrace vyvolávající zvýšení zbytkové tenze o 50 %) a na této úrovni se provádí srovnání účinnosti s terbutalinem.

Údaje o účinnosti v tabulce IV představují průměrné hodnoty dvou pokusů.

Výsledky

Sloučenina z příkladu 1 zvyšuje kontraktilitu elektricky stimulované aurikuly levé srdeční předsně morčete. Hodnota EC_{50} činí $2,70 \pm 0,10 \mu\text{g/ml}$ (mol. hmotnost $\pm$ stand. odchylka průměru, 5 pokusů) a pro terbutalin $0,11 \pm 0,02 \mu\text{g/ml}$. Účinnost sloučeniny činí 0,04 násobek účinnosti terbutalinu. Srdečně stimulační účinek sloučeniny se blokuje propranololem v množství 1 $\mu\text{g/ml}$.

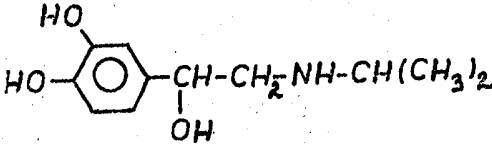
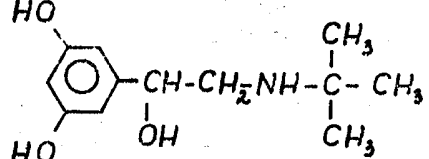
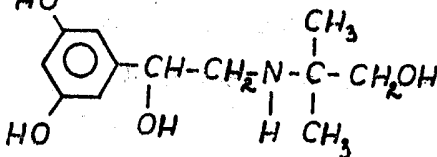
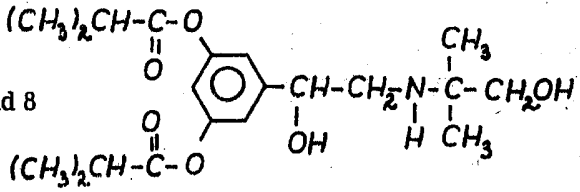
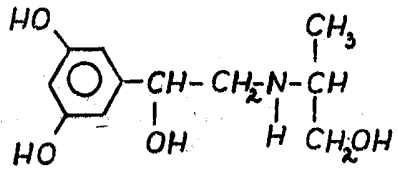
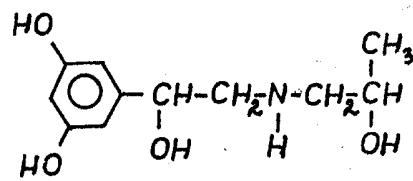
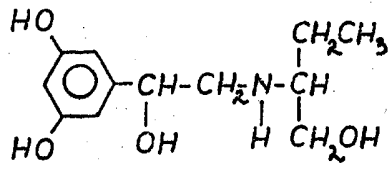
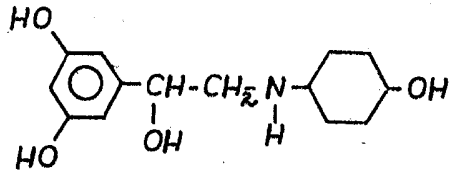
Stimulační účinek všech zkoušených sloučenin ve vztahu k terbutalinu je udán v tabulce IV.

Kompilace výsledků farmakologických zkoušek

V tabulce IV uvedené níže jsou shromážděny výsledky farmakologických zkoušek týkajících se antianafylaktického účinku, bronchospasmolytického účinku a srdečně stimulačního účinku. Všechny hodnoty jsou udávány jako poměrné účinnosti, přičemž se používá příslušného účinku terbutalinu jako jednotky (1,0).

Tabulka IV

Kompilace dat z farmakologických zkoušek. Účinek srovnávací látky terbutalinu je vzat jako 1,0 a účinek zkoušených sloučenin je vztažen na tento účinek terbutalinu

Zkoušená látko z příkl. č.	Struktura	Inhibice uvolňo- vání his- taminu z aktivně zcitlivě- ných plic morčat	Inhibice pasivní kožní anafy- laktoid- ní reak- ce u krys	Relaxace průduš- nice morčat	Stimula- ce srdeč- ní auri- kuly morčat
Isopre- nalín		2,0	10	18	1000
Terbuta- lin (srovná- vací látko)		1,0	1,0	1,0	1,0
Příklad 1		1,0	1,0	0,04	0,03
Příklad 8		0,1	1,0		
Příklad 2		1,0	1,0	0,1	0,3
Příklad 4		1,0	0,03	0,003	0,01
Příklad 5		0,07	0,1	0,001	0,001
Příklad 3		0,07	0,01	0,001	0,000

Poznámky k výsledkům zkoušek z tabulky IV

Údaje o účinnosti udávané ve sloupci 4 tabulky IV představují průměrné hodnoty 2 až 3 vzorků plicních tkání na úrovni 3 až 4 dávek. Počet studií pro sloučeninu podle příkladu 1 a pro terbutalin je udán v tabulce I.

Z tabulky IV je zřejmé, že sloučeniny podle vynálezu inhibují uvolňování histaminu vyvolané antigenem z plicních řezů morčat a rozvinutí anafylaktoidních kožních reakcí u krys. Koncentrace terbutalinu potřebné pro uvolnění průdušnice a inhibici uvolňování histaminu jsou přibližně stejné. Stejný vztah mezi relaxací průdušnice a inhibicí uvolňování histaminu byl nalezen u isoprenalinu. Terbutalin však vykazuje mnohem příznivější vztah mezi antialergickými účinky a stimulací srdečního svalu než isoprenalin (kvocient 1 pro terbutalin a 0,2 pro isoprenalin).

Výhodné sloučeniny podle vynálezu, tj. sulfát 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-3-hydroxyethyl)amino]ethanolu a příbuzné sloučeniny mají jiný profil účinku než terbutalin a isoprenalin, tj. mají antialergické účinky v koncentracích, při nichž mají velmi slabý relaxační účinek na průdušnici. Sloučenina z příkladu 1 inhibuje anafylaktické uvolňování histaminu z plic morčat a anafylaktoidní kožní reakci u krys ve stejné koncentraci jako terbutalin, zatím-

co účinek na průdušnici morčete je pouze 0,04 násobkem účinku terbutalinu, což znamená, že kvocient mezi antialergickými účinky a relaxací průdušnice je 25. Účinek sloučeniny z příkladu 1 na preparát z aurikuly srdeční předsíně je 0,03 násobku účinku terbutalinu, tj. má stejný příznivý poměr mezi relaxací průdušnice a stimulací aurikuly srdeční předsíně jako terbutalin. Propranolol blokuje tento účinek, což ukazuje, že se jedná o β -stimulační látku. Jak je vidět z tabulky II, sloučenina z příkladu 1 také inhibuje nehistaminovou svalově kontrakční látku, která se uvolňuje z plic při anafylaxi.

Sloučeniny podle vynálezu vykazují tedy selektivní antialergické účinky v rozsahu dávky, jejichž účinek na bronchy a srdce je zanedbatelný.

C. Toxicita

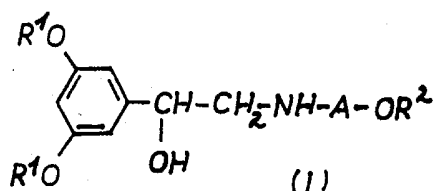
Akutní toxicita (LD_{50}) sulfátu 1-(3,5-dihydroxyfenyl)-2-[(1,1-dimethyl-2-hydroxyethyl)amino]ethanolu byla stanovena

standardním testem na myších ()

NMRI, 25 g). Intravenózní toxicita je 110 ± 58 mg/kg tělesné hmotnosti a LD_{50} po subkutánní aplikaci je 400 ± 18 mg/kg tělesné hmotnosti.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

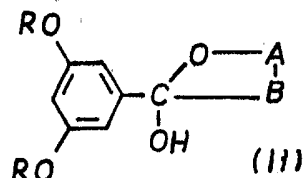
1. Způsob výroby nových derivátů fenylaminoethanolu obecného vzorce I



ve kterém

R^1 a R^2 jsou stejné nebo rozdílné a znamenají vodík, alifatickou acylovou skupinu o 1 až 5 atomech uhlíku, benzoyl nebo fenylacetyl,

A znamená přímou nebo rozvětvenou alkylenovou skupinu o 3 až 6 uhlíkových atomech, nebo cykloalkylenovou skupinu o 4 až 6 uhlíkových atomech, jakož i jejich fyziologicky neškodných solí, vyznačující se tím, že se redukuje sloučenina obecného vzorce II



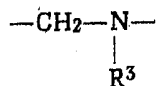
ve kterém

R je vodík nebo skupina chránící hydroxyl, jako například alkylová nebo alifatická acylová skupina o nejvýše 5 uhlíkových atomech, mono- nebo bicyklická aralkylová skupina o nejvýše 11 uhlíkových atomech, jako například benzyl nebo naftylmethyl, nebo benzoylová skupina nebo fenylacetylová skupina,

A má význam udaný výše a B znamená skupinu vzorce



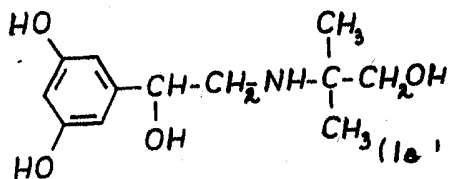
nebo



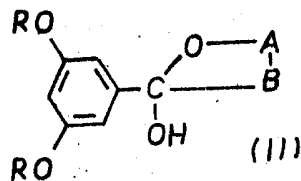
kde

R^3 znamená vodík nebo N-chráncí skupinu, jako benzyl, načež, je-li třeba, chráncí skupiny R a R^3 se odstraní a potom, je-li třeba, získaná sloučenina obecného vzorce I se převede na svoji fyziologicky neškodnou sůl a/nebo se rozdělí ve své optické isomery.

2. Způsob podle bodu 1 k výrobě sloučeniny vzorce Ia



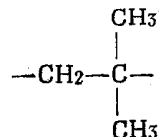
vyznačující se tím, že sloučenina vzorce II



kde

R má stejný význam jako udáno v bodě 1

A značí skupinu



a

B má stejný význam jako udáno výše v bodě 1, se redukuje, načež, je-li třeba, se odstraní chráncí skupiny R a R^3 ze získané sloučeniny.